Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 3, Fall 2022, p. 619-630

Effect of Cinnamic Acid on Morphophysiological Characteristics of Cucumber Seedling under Chilling Stress

Z. Darabi[1], F. Ghanbari[2*], J. Erfani Moghadam[3]

Received: 08-10-2021
Revised: 23-10-2021
Accepted: 02-01-2022
Available Online: 25-11-2022

How to cite this article:
Darabi, Z., Ghanbari, F., & Erfani Moghadam, J. (2022). Effect of Cinnamic Acid on Morphophysiological Characteristics of Cucumber Seedling under Chilling Stress. *Journal of Horticultural Science 36*(3): 619-630. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/jhs.2022.72749.1093

Introduction

Low temperature is one of the most important environmental stresses that cause damage to plants and limit the geographical distribution of plant species. Plants of tropical and sub-tropical origin, such as cucumbers, are sensitive to cold stress and severely damaged at low temperatures. Plants have evolved a set of defense mechanisms to adapt to low temperatures. These mechanisms include the regulation of gene expression and physiological and biochemical changes that increase plant resistance to chilling stress. Cinnamic acid (CA) is one of the most important phenolic acids present in all plants and has antimicrobial properties against fungi and bacteria. The application of this compound in some plants causes oxidative stress and leads to the activation of antioxidant enzymes. Therefore, in the present study, the effects of exogenous cinnamic acid treatment on cold stress tolerance in cucumber seedlings have been investigated.

Materials and Methods

This research was conducted in the greenhouse and laboratory of the Department of Horticultural Sciences of Ilam University in 2019. Cucumber seeds (Super Daminus cultivar) were planted in a 1: 1: 1 ratio of field soil, manure, and sand. In the fully developed two-leaf stage, seedlings produced were sprayed using cinnamic acid (at concentrations of 0, 50, 100, and 200 µM). Foliar spraying treatments were applied at the mentioned concentrations until the surface of the leaves was completely wet. 24 hours after foliar application, all plants were exposed to cold stress at 3 ° C for 6 hours in six consecutive days. After applying the cold treatment, the seedlings were transferred to the greenhouse and 72 hours later, the traits were measured.

Results and Discussion

The results showed that exogenous CA application increased the growth characteristics of cucumber seedlings subjected to chilling stress. Improving the growth and development of plants under stress conditions by cinnamic acid treatment has been reported in other studies, which is consistent with the results of the present study. It has been reported that cinnamic acid treatment, by causing oxidative shock in plants, leads to plant defensive responses to stress conditions, and through this, plants can better withstand stress conditions. These defense responses include increasing compatible solutions and improving the antioxidant system. In the present study, the use of cinnamic acid treatment increased proline, chlorophyll, and total phenol and reduced of membrane lipid peroxidation, and these changes led to a decrease in the apparent effects of cold on cucumber seedlings.

The use of chemicals that can mitigate the effects of cold on the plant can also help maintain plant growth under cold stress. In the present study, the application of cinnamic acid improved the growth of cucumber seedlings under cold stress conditions. Cinnamic acid pretreatment by inducing antioxidant compounds reduced the effects of cold on cucumber seedlings and improved plant growth in chilling conditions. Also, cinnamic acid treatment increased the growth of pepper plants under salinity stress, cucumber under drought stress, and wheat

1, 2, and 3- M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: F.ghanbari@ilam.ac.ir)

under drought conditions, which is consistent with the results of the present study. Therefore, it can be said that cinnamic acid improves plant growth under stress by changing physiological and biochemical processes. The results showed that the application of cinnamic acid improved the growth of cucumber seedlings under chilling stress conditions. Cinnamic acid pretreatment caused a significant increase in relative water content (25 to 32%), chlorophyll (108 to 125%), proline (152 to 244%), and total phenol (31%) compared to the control, therefore improving the adaptabilities of cucumber seedlings to chilling stress. The application of cinnamic acid also reduced the damage to cell membranes. The electrolyte leakage and malondialdehyde accumulation of cinnamic acid-treated seedlings were lower than that of control seedlings.

Conclusion

In general, the results of this study showed that the application of cinnamic acid reduced the effects of cold stress on cucumber seedlings. These results were associated with increased proline, chlorophyll, phenol and relative water content, in this way, the rate of ion leakage and accumulation of malondialdehyde in cucumber seedlings were reduced under cold stress. In general, the results showed that cinnamic acid treatment (especially concentration of 200 μM) can effectively reduce the effects of chilling on cucumber seedlings and improve their growth under cold stress.

Keywords: Chilling injury, Chlorophyll, Malondialdehyde, Proline, Total phenol

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص. ۶۳۰-۶۱۹

اثر سینامیک اسید بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی نشاء خیار تحت تنش سرما

زهرا دارابی[۱]- فردین قنبری[۲]*- جواد عرفانی مقدم[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲

چکیده

یکی از مشکلات اصلی گیاهان گرمسیری مانند خیار (*Cucumis sativus* L.) حساسیت به دمای پائین است که منجر به ایجاد آسیب سرمازدگی در آن‌ها می‌شود. سینامیک اسید یک اسید فنلی است و کاربرد خارجی آن سبب بهبود سیستم آنتی اکسیدانی شده و تحمل شرایط تنش را در گیاه بالا می‌برد. در تحقیق حاضر اثرات کاربرد سینامیک اسید بر تحمل تنش سرمایی نشاء خیار بررسی شده است. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه ایلام انجام شد. نشاءهای خیار در مرحله دو برگی با غلظت‌های مختلف سینامیک اسید (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) محلول‌پاشی شده و سپس در معرض تنش سرما (۳ درجه سانتی‌گراد به مدت شش ساعت در شش روز متوالی) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید بر وزن‌تر و خشک شاخساره و ریشه، محتوای رطوبت نسبی، نشت یونی، مالون دی آلدهید، فنل کل، پرولین، کلروفیل و شاخص سرمازدگی معنی‌دار شد. کاربرد سینامیک اسید سبب بهبود پارامترهای رشدی نشاءهای خیار در شرایط تنش سرمایی شد. پیش‌تیمار سینامیک اسید سبب افزایش معنی‌دار محتوای رطوبت نسبی (۲۵ تا ۳۲ درصد افزایش)، کلروفیل (۱۰۸ تا ۱۲۵ درصد افزایش)، پرولین (۱۵۲ تا ۲۴۴ درصد افزایش) و فنل کل (۳۱ درصد افزایش) نسبت به شاهد شده و از این طریق خسارت سرما به نشاء خیار را کاهش داد. همچنین استفاده از سینامیک اسید خسارت به غشاءهای سلولی را کاهش داده و نشاءهای تیمار شده با سینامیک اسید نشت یونی و تجمع مالون دی آلدهید کمتری (۹ تا ۵۲ درصد کاهش) نسبت به شاهد داشتند. به طور کلی نتایج نشان داد که تیمار ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید به طور مؤثری می‌تواند آثار سرما بر نشاء خیار نسبت به شاهد را کاهش داده و سبب بهبود رشد آن در شرایط تنش سرما شود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، خسارت سرمایی، فنل کل، کلروفیل، مالون دی آلدهید

مقدمه

دمای پایین یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که سبب آسیب به گیاهان شده و توزیع جغرافیایی گونه‌های گیاهی را محدود می‌کند. تنش دمای پایین شامل تنش سرمایی (دمای بین صفر و ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و تنش یخ‌زدگی (دمای کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد) است (Zhou *et al*., 2011). گیاهان با منشأ گرمسیری و نیمه گرمسیری مانند کدوئیان نسبت به تنش سرما حساس بوده و در دمای پایین به شدت آسیب می‌بینند (Li *et al*., 2011). گیاهان مجموعه‌ای از مکانیسم‌های دفاعی را برای سازگاری با دمای پایین تکامل داده‌اند. این مکانیسم‌ها شامل تنظیم بیان ژن و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است که مقاومت گیاه به سرما را افزایش می‌دهد (Xe *et al*., 2008; Zhou *et al*., 2011). در شرایط تنش سرمایی غشای سلولی دچار تغییر فاز از کریستال مایع به حالت ژله‌ای شده و این امر منجر به کاهش سیالیت غشاء و سفت شدن آن می‌شود (Lin *et al*., 2020). از طرف دیگر، تولید بیش از حد گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن در شرایط سرما منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شود، این امر یکپارچگی غشاء را به خطر می‌اندازد و بنابراین منجر به افزایش نشت املاح از سلول‌ها شده و تجمع مالون دی آلدهید افزایش می‌یابد (Liu *et al*., 2009). علاوه بر این تجمع املاح سازگار، بیوسنتز کلروفیل، کاهش ظرفیت فتوسنتزی و کاهش متابولیسم کربوهیدرات‌ها در اثر دمای پایین اتفاق می‌افتد که منجر به کاهش عملکرد و کیفیت

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: F.ghanbari@ilam.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2022.72749.1093

محصولات می‌شود (Hussain *et al*., 2018). ROSهای تولید شده در شرایط تنش بسیار واکنش‌پذیر هستند و می‌توانند به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برسانند و در نتیجه هموستاز سلولی را مختل کنند (Liang *et al*., 2020). برای مقابله با این تغییرات گیاهان ظرفیت دفاعی خود را بالا برده و با استفاده از انواع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی سطح ROSهای تولید شده را کنترل می‌کنند (Hussain *et al*., 2018). از آنجا که گونه‌های حساس به سرما نسبت به گونه‌های مقاوم دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتری هستند، یک رویکرد امیدوار کننده برای افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش سرما، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها خواهد بود (Xu *et al*., 2008).

سینامیک اسید یکی از مهم‌ترین اسیدهای فنولی است (Gao *et al*., 2018). تولید نشاء خیار در محلول غذایی حاوی سینامیک اسید جذب یون توسط ریشه‌های گیاه را مهار کرده و با افزایش نفوذپذیری غشاء، نشت یونی را افزایش می‌دهد (Yu *et al*., 1997). با این وجود، لی و همکاران (Li *et al*., 2011) گزارش دادند که پیش تیمار نشاهای خیار با غلظت پایین‌تر سینامیک اسید (۵۰ میکرومولار) با تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سبب بهبود تحمل سرما در این گیاه شد. کاربرد خارجی سینامیک اسید سبب کاهش آثار تنش خشکی در نشاء خیار شده و با تغییر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و محلول‌های سازگار سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش می‌شود (Sun *et al*., 2012). همچنین گزارش شده است که استفاده از غلظت پایین سینامیک اسید (۵۰ میکرومولار) سبب افزایش نیتریک اکسید و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی شده و با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش پرولین و نسبت پتاسیم به سدیم سبب کاهش آثار تنش شوری در نشاء فلفل شد (Lin *et al*., 2020).

خیار (*Cucumis sativus* L.) سبزی میوه‌ای پر مصرف است که در بسیاری از مناطق جهان کشت می‌شود. بر اساس آمار منتشر شده میزان تولید خیار در دنیا به بیش از ۸۷/۸ میلیون تن در سال می‌رسد که کشور ایران با تولید ۱/۶ میلیون تن بعد از کشورهای چین و ترکیه، سومین کشور تولیدکننده این محصول در دنیا می‌باشد (FAO, 2021). با این حال خیار به دمای زیر ۱۵ درجه سانتی‌گراد حساس است و اگر دما به طور ناگهانی در طول دوره رویش گیاه به این سطح برسد، ممکن است تلفات قابل توجهی داشته باشد (Xu *et al*., 2008). بنابراین در تحقیق حاضر اثرات کاربرد تیمار سینامیک اسید بر بهبود رشد، کنترل تنش سرمایی و پاسخ‌های فیزیولوژیکی وابسته به آن بررسی شد.

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش و تیمارها

این تحقیق در سال ۱۳۹۸ در گلخانه و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه ایلام به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ابتدا بذرهای خیار (رقم 'سوپر دامینوس') در گلدان پلاستیکی نشایی (قطر دهانه ۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متر) حاوی محیط کشت خاک مزرعه، کود دامی و ماسه بادی با نسبت ۱:۱:۱ کشت شده و در گلخانه با دمای روزانه ۳±۲۴ و شبانه ۳±۱۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد و نور طبیعی پرورش یافت. نشاءهای تولید شده یک روز در میان آبیاری شدند. در مرحله دو برگ کاملاً توسعه یافته گیاهچه‌های تولید شده با استفاده از سینامیک اسید (با فرمول شیمیایی $C_6H_5CH{=}CHCOOH$، ساخت شرکت سیگما-آلدریچ آمریکا) در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار محلول‌پاشی شدند. تیمارهای محلول‌پاشی در غلظت‌های ذکر شده تا خیس شدن کامل سطح برگ‌ها اعمال شد. ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمارهای محلول‌پاشی همه گیاهان به اتاقک رشد منتقل شده و در معرض تنش سرمایی در دمای سه درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت در روز برای شش روز متوالی قرار گرفتند. اعمال تیمار سرمایی به صورت پیوسته در ساعت ۸ تا ۱۴ انجام شد و پس از پایان دوره سرمایی نشاءها به گلخانه منتقل شده و ۷۲ ساعت بعد صفات اندازه‌گیری شد (Korkmaz *et al*., 2010).

اندازه‌گیری صفات

ارتفاع گیاه با استفاده از خط‌کش از سطح خاک تا بالاترین نقطه شاخساره اندازه‌گیری شد. وزن‌تر و خشک شاخساره و ریشه (دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آون برای خشک کردن گیاه استفاده شد) با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد.

برای تعیین محتوای رطوبت نسبی (RWC) از روش کورکماز و همکاران (Korkmaz *et al*., 2010) استفاده شد. ابتدا تعدادی مساوی برگ از هر تکرار انتخاب و جدا گردید. نمونه‌ها به‌وسیله ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند (FW) و سپس به مدت ۵ ساعت در آب مقطر (جهت آب‌گیری کامل) نگه‌داری شده و پس از خشک کردن آب سطحی مجدداً توزین شدند (TW). پس از آن برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آون الکتریکی قرار داده شدند. سپس برگ‌ها توزین شدند تا وزن خشک به دست آید (DW). از رابطه ۱ محتوای رطوبت نسبی برگ محاسبه گردید.

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad \text{(رابطه ۱)}$$

اندازه‌گیری نشت یونی برگ بر اساس روش لوتس و همکاران (Lutts *et al.*, 1995) انجام شد. برای این منظور تعداد ۱۲ دیسک برگی یک سانتی‌متری به‌صورت تصادفی از گیاهان هر تیمار مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های تهیه‌شده در داخل لوله آزمایش ریخته شده و به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی سه بار با آب مقطر شستشو شدند. سپس در داخل هرکدام از لوله‌های آزمایش مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه، در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس میزان نشت یونی محلول با استفاده از دستگاه سنجش هدایت الکتریکی قرائت گردید (EC1). سپس نمونه‌ها در داخل اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. بعد از سرد شدن در دمای اتاق قرائت دوم محلول (EC2) انجام گرفت و بر اساس رابطه ۲ میزان نشت یونی محاسبه و بر اساس درصد گزارش شد.

$$\text{نشت یونی} = \frac{EC1}{EC2} \times 100 \quad \text{(رابطه ۲)}$$

برای اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدهید که بیانگر میزان پراکسیده شدن لیپیدهای غشاء سلولی است، از روش استیوارت و بیولی (Stewart and Bewley, 1980) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه‌تازه گیاهی (برگ) را با نیتروژن مایع در هاون خرد کرده تا به‌صورت پودر درآید. پودر تهیه شده به تیوب ۱۵ میلی‌لیتری منتقل کرده و مقدار ۵ میلی‌لیتر اسیدتری کلرو استیک ۰/۱ درصد به تیوب اضافه شد. سپس تیوب‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از روشناور را به یک تیوب جدید منتقل کرده و به آن یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد وزنی به حجم (w/v) اسید تیو باربیتوریک حاوی اسیدتری کلرواستیک ۲۰ درصد اضافه شد. سپس تیوب‌ها در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. بلافاصله پس از خارج نمودن تیوب از حمام آب داغ به‌منظور توقف واکنش، تیوب‌ها در آب یخ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس اقدام به قرائت میزان جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول‌موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر شد.

برای اندازه‌گیری مقدار فنل کل از روش فولین- سیوکالته استفاده شد. به این منظور ۰/۱ گرم نمونه برگی با اضافه کردن سه میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد کوبیده شد و پس از صاف کردن آن با کاغذ صافی، ۳۰۰ میکرو لیتر آن برداشته شد و به آن ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به آن ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد اضافه شده و پس از دو ساعت تکان دادن روی شیکر در دمای اتاق، جذب محلول در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Singleton and Rossi, 1965).

برای استخراج و اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. برای این کار ابتدا ۰/۲ گرم از بافت برگ تازه با ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد در هاون چینی ساییده شد. سپس نمونه ساییده شده درون لوله آزمایش ریخته و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بخش بالایی آن جدا شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره فوق جدا و داخل لوله آزمایش ریخته شد. به هر نمونه ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و سپس، ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. پس از طی مراحل فوق، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در داخل بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب یخ، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به‌عنوان بلانک قرائت شد. میزان پرولین نمونه‌های برگ بر حسب میکرو مول در گرم وزن‌تر گزارش شد.

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش استراین و اسوک (Strain and Svec, 1966) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۱ گرم برگ تازه را با استفاده از پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به‌دست آید. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و با ۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد و سپس در طول‌موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر طول‌موج جذبی (A) قرائت، و کلروفیل a، b و کل به ترتیب بر اساس رابطه‌های ۳، ۴ و ۵ محاسبه شد.

$$Chl\ a = 12.7(A663) - 2.69(A645) \quad \text{(رابطه ۳)}$$

$$Chl\ b = 25.8(A645) - 4.68(A663) \quad \text{(رابطه ۴)}$$

$$Chl\ total = 20.21(A645) + 8.02(A663) \quad \text{(رابطه ۵)}$$

شاخص خسارت سرمازدگی بر اساس پژمرده شدن، از دست دادن آب و نکروزه شدن برگ‌ها و شاخه‌ها پس از تنش سرمایی بر طبق مقیاس زیر طبقه‌بندی گردید:

۱: در این حالت علائم سرمازدگی قابل‌رؤیت نبود.

۲: نواحی کوچک نکروزه روی شاخه‌ها اما بدون محدودیت رشد قابل‌رؤیت بود (کمتر از ۵ درصد سطح برگ‌ها نکروزه شده بود)

۳: نواحی کوچک نکروزه روی شاخه‌ها قابل‌رؤیت بود (کمتر از ۱۵درصد سطح برگ‌ها نکروزه شده بود)

۴: نواحی نکروزه مشخص روی شاخه‌ها قابل‌رؤیت بود (تا ۳۰ درصد از سطح برگ‌ها نکروزه شده بود)

۵: نواحی نکروزه وسیع همراه با کاهش یا محدودیت شدید رشد مشهود بود (بیش از ۵۰ درصد سطح برگ‌ها نکروزه می‌شود اما هنوز گیاه زنده است). گروه‌های مذکور، با یکی از شماره‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ارزش‌گذاری شد و میانگین خسارت برای هر تیمار محاسبه گردید (Wang, 1985).

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2016 ترسیم گردید.

نتایج و بحث

پارامترهای رشدی

نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید بر وزن‌تر و خشک شاخساره و ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر تیمار سینامیک اسید بر ارتفاع نشاء معنی‌دار نشد (جدول ۱). بر طبق نتایج مقایسه میانگین کاربرد سینامیک اسید در هر سه غلظت (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) سبب افزایش معنی‌دار وزن‌تر شاخساره، وزن‌تر ریشه و وزن خشک ریشه نسبت به شاهد (افزایش ۳۹ تا ۷۰ درصدی) شد (شکل‌های ۱ و ۲). از طرف دیگر، کاربرد ۵۰ و ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید وزن خشک شاخساره را به طور معنی‌داری افزایش داد و غلظت ۱۰۰ میکرومولار تأثیر معنی‌داری بر آن نداشت (شکل ۱). بیشترین افزایش پارامترهای رشدی در تیمار ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید مشاهده شد (شکل‌های ۱ و ۲). تنش سرما همانند سایر تنش‌های محیطی آثار مخرب بر رشد گیاهان دارد (Xu *et al*., 2008). زیرا که در شرایط تنش سرمایی فتوسنتز کاهش یافته و تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد منجر به تخریب کلروفیل شده و همچنین جذب عناصر غذایی دچار مشکل می‌شود که در نهایت کاهش رشد گیاه را در پی دارد (Hussain *et al*., 2008). لی و همکاران (Li *et al*., 2011) گزارش کردند که پیش تیمار سینامیک اسید با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش آثار سرما در نشاء خیار شده و رشد گیاه در شرایط سرد را بهبود داد. همچنین تیمار سینامیک اسید سبب افزایش رشد گیاهان فلفل در شرایط تنش شوری (Lin *et al*., 2020)، خیار در شرایط تنش خشکی (Sun *et al*., 2012) و گندم در شرایط کم آبی (Singh *et al*., 2013) شد، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر گیاهان در معرض تنش سرما قرار داشتند، بنابراین تیمار سینامیک اسید با کاهش آثار سرما بر گیاه سبب حفظ رشد نشاء در شرایط تنش سرمایی شد.

محتوای رطوبت نسبی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید در سطح یک درصد آماری بر محتوای رطوبت نسبی معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش غلظت سینامیک اسید محتوای رطوبت نسبی نیز روند افزایشی داشت به طوری که غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید سبب افزایش ۲۵، ۲۹ و ۳۲ درصدی این صفت نسبت به شاهد شدند (جدول ۳). وضعیت آب گیاه ارتباط مستقیمی با رشد و نمو دارد، که عامل مؤثر کلیدی بر عملکرد و کیفیت محصولات باغی است. حفظ وضعیت مطلوب آب گیاه بسیار مهم است، زیرا که اگر سطح آب گیاه فراتر از حد معینی (سطح آستانه) کاهش یابد، کاهش شدیدی در عملکرد و کیفیت گیاه به وجود می‌آید (Parkash and Singh, 2020). به طور کلی، گیاهان در شرایط تنش سرما علائم تنش آب را نشان می‌دهند، که با کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه و به دنبال آن کاهش شدید پتانسیل آب برگ و از دست دادن فشار تورژسانس ایجاد می‌شود (Aroca *et al*., 2003). گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با کاهش آثار تنش بر گیاه ذرت سبب حفظ رطوبت نسبی آن در شرایط تنش اسمزی می‌شود (Singh *et al*., 2013). همچنین ونگ و همکاران (Wang *et al*., 2007) گزارش دادند که در شرایط تنش، اسید سینامیک می‌تواند محتوای آب نشاءهای خیار را افزایش دهد که برای ادامه رشد آن‌ها در شرایط تنش بسیار مفید است.

نشت یونی و مالون دی آلدهید

برطبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر تیمار سینامیک اسید در سطح یک درصد آماری بر نشت یونی و در سطح پنج درصد آماری بر محتوای مالون دی آلدهید معنی‌دار شد (جدول ۱). کاربرد سینامیک اسید در هر سه غلظت (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) سبب کاهش معنی‌دار نشت یونی و مالون دی آلدهید در نشاءهای خیار تحت تنش سرما شد. بین غلظت‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری برای نشت یونی و مالون دی آلدهید مشاهده نشد (جدول ۳). گزارش شده است که در شرایط تنش‌های محیطی تولید زیاد ROSها اتفاق می افتد و این ترکیبات با پراکسیداسیون لیپیدها، غشاءهای سلولی را تخریب می‌کنند. نتیجه این فرآیند تولید مالون دی آلدهید و افزایش نشت یونی در سلول‌ها خواهد بود (Liu *et al*., 2009). بنابراین افزایش محتوای مالون دی آلدهید و نشت یونی سلولی در گیاهان تحت تنش مشاهده می‌شود (Korkmaz *et al*., 2010). سینامیک اسید یک اسید فنولی است و هنگامی که به صورت برون‌زا در غلظت مناسب استفاده شود، می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و آسیب‌های ناشی از تنش بر گیاهان را کاهش دهد (Lin *et al*., 2020). سینامیک اسید به واسطه اثری که بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی دارد می‌تواند رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و از تجمع مالون دی آلدهید و افزایش نشت یونی در گیاهان تحت تنش جلوگیری کند (Karadağ and Yücel, 2007). در تحقیقی لی و همکاران (Li *et al*., 2011) گزارش دادند که پیش تیمار سینامیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده،

پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد و تحمـل نشـاءهای خیـار در برابر تنش سرما را افزایش می‌دهد. در تحقیقی دیگـر کـاربرد غلظـت ۵۰ میکرومولار سینامیک اسید سبب کاهش تجمع مالون دی آلدهیـد در نشاءهای خیار تحت تنش شوری شد (Wang *et al*., 2007).

فنل کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتـوای فنـل کـل در سطح یک درصد آماری تحت تأثیر تیمار سینامیک اسید قـرار گرفـت (جـدول ۲). کـاربرد سـینامیک اسـید در غلظـت‌هـای ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری بر فنل کل نسبت بـه شـاهد نداشـت ولی غلظت ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید سبب افزایش معنـی‌دار و ۳۱ درصدی فنل کل نسبت به شاهد شد (جدول ۳). سـینامیک اسـید ماده اولیه مسیر فنیل پروپانوئید و پیش‌ساز بیوسنتز ترکیبات فنلـی در گیاهان است (Sharma *et al*., 2019). بنابراین بدیهی است که تیمار خارجی سینامیک اسـید منجـر بـه تقویـت مسیر فنیـل پروپانوئیـد و بیوسنتز بیشتر ترکیبات فنلـی شـود (Mohagheghian and Ehsan Pour, 2021).

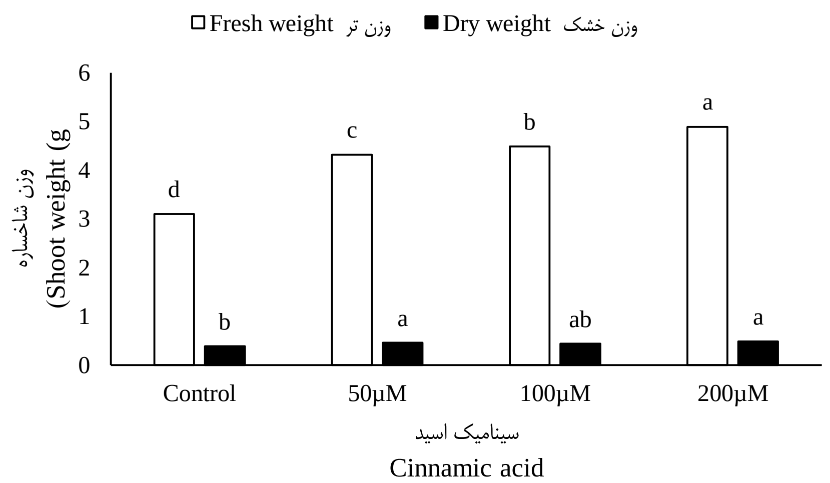
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات رشدی، محتوای رطوبت نسبی، نشت یونی و مالون دی آلدهید نشاءهای خیار رقم ’سوپر دامینوس‘ تیمار شده با سینامیک اسید

Table 1- ANOVA for the growth traits, relative water content, ionic leakage and malondialdehyde in cucumber cv. Super Dominus seedlings treated with cinnamic acid

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares							
		ارتفاع گیاه Plant height	وزن‌تر شاخساره Shoot fresh weight	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight	وزن‌تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	محتوای رطوبت نسبی Relative water content	نشت یونی Ionic leakage	مالون دی آلدهید Malondialdehyde
تیمار Treatment	3	1.95ns	1.787**	0.0055**	1.045**	0.0069**	343.26**	235.70**	0.026*
خطای آزمایشی Error	8	0.58	0.005	0.0007	0.001	0.001	0.53	3.19	0.004
ضریب تغییرات C.V (%)	-	7.57	10.75	6.18	11.49	4.16	8.82	8.05	4.94

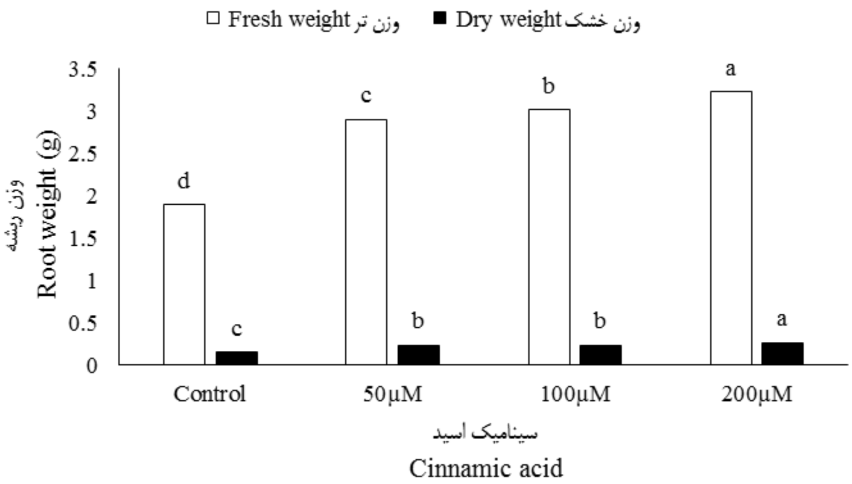
ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.



شکل ۱- اثر سینامیک اسید بر وزن‌تر و خشک شاخساره خیار رقم ’سوپر دامینوس‘ تحت تنش سرما

Figure 1- The effect of different concentrations of cinnamic acid on fresh and dry weight of cucumber cv. Super Dominus shoots subjected to chilling stress (Duncan, $p\leq0.05$).



شکل ۲- اثر سینامیک اسید بر وزن‌تر و خشک ریشه نشاء خیار رقم 'سوپر دامینوس' تحت تنش سرما

Figure 2- The effect of different concentrations of cinnamic acid on fresh and dry weight of cucumber cv. Super Dominus roots subjected to chilling stress (Duncan, *p≤0.05*).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشاءهای خیار رقم 'سوپر دامینوس' تیمار شده با سینامیک اسید

Table 2- ANOVAfor the physiological and biochemical traits in cucumber cv. Super Dominus seedlings treated with cinnamic acid

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares					
		فنل کل Total phenol	پرولین Proline	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	شاخص سرمازدگی Chilling index
تیمار Treatment	3	5.45**	100.15**	1.01**	0.23**	1.92**	3.68**
خطای آزمایشی Error	8	0.32	3.62	0.07	0.01	0.07	0.14
ضریب تغییرات C.V (%)	-	6.72	13.98	16.42	12.97	11.78	14.10

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at *p≤0.01* and *p≤0.05*, respectively.

در سال‌های اخیر، نشان داده شده است که محتوای فنول گیاهان به دلیل عوامل استرس‌زای محیطی و زیستی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد. این ترکیبات در القای بیان ژن، مسیرهای انتقال سیگنال و هموستاز متابولیک در گیاهان در شرایط نامساعد محیطی نقش دارند تا گیاهان بتوانند پاسخ‌های مناسبی را به شرایط تنش داشته باشند (Singh *et al.*, 2011). گزارش شده است که تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان تحت تنش می‌تواند سبب کنترل پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء شود زیرا که این ترکیبات بسته به ساختار خود رادیکال‌های آزاد را به دام می‌اندازند و خنثی می‌کنند (Milic *et al.*, 1998). ترکیبات فنولی انتشار رادیکال‌های آزاد را به ماتریس آبگریز (hydrophobic matrix) غشاء محدود کرده و واکنش‌های پراکسیداتیو را در ناحیه آبگریز غشاء محدود می‌کنند (Verstraeten *et al.*, 2003). افزایش ترکیبات فنلی در نشاءهای خیار با تیمار سینامیک اسید یک تغییر مثبت بوده و می‌تواند آثار مخرب تنش سرما بر گیاه را کاهش دهد. گزارش شده است که استفاده از سینامیک اسید در گیاه گندم تحت تنش شوری با افزایش ترکیبات فنلی سبب کاهش آثار شوری بر گیاه شد (Karadağ and Yücel, 2017). همچنین محققیان و احسان‌پور (Mohagheghian and Ehsan Pour, 2021) با بررسی اثر سینامیک اسید بر تحمل تنش شوری در گیاه تنباکو، نشان دادند که کاربرد سینامیک اسید سبب افزایش فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین در این گیاه شد.

پرولین

محتوای پرولین در نشاءهای خیار در تنش سرما در سطح یک درصد آماری قرار گرفت (جدول ۲). در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید محتوای پرولین به ترتیب ۱۸۸، ۲۴۴ و ۱۵۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۳). تجمع بیش از حد ROS و آسیب ناشی از تنش‌های محیطی می‌تواند باعث تجمع پرولین شود. پرولین به عنوان اسمولیت و همچنین املاح سازگار عمل می‌کند و این نقش محافظتی در سازگاری سلول‌های گیاهی به شرایط تنش مؤثر است (Trovato *et al*., 2019). پرولین می‌تواند پتانسیل اسمزی سلولی را کاهش داده و در شرایط تنش، آماس سلول را حفظ کند (Hussain *et al*., 2018). کاراداگ و یوسل (Karadağ and Yücel, 2017) نتایج مشابهی را در گیاه گندم تحت تنش شوری مشاهده کردند. سان و همکاران (Sun *et al*., 2012) گزارش دادند که کاربرد خارجی سینامیک اسید در گیاه خیار تحت تنش خشکی با افزایش سطح پرولین و آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش آثار تنش بر گیاه شد. تیمار سینامیک اسید محتوای پرولین را در برگ‌های فلفل تحت تنش شوری افزایش داد، پدیده‌ای که ممکن است به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سینامیک اسید نسبت داده شود و از این طریق گیاهان را از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌کند (Lin *et al*., 2020). در این تحقیق نیز پیش تیمار سینامیک اسید با افزایش محتوای پرولین، پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داده و از نشاهای خیار در برابر سرما محافظت کرد.

جدول ۳- اثرات سینامیک اسید بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در نشاءهای خیار تحت تنش سرما

Table 3– The effects of cinnamic acid on some physiological and biochemical traits of cucumber cv. Super Dominus seedlings under cold stress

سینامیک اسید Cinnamic acid	محتوای رطوبت نسبی Relative water content (%)	نشت یونی Ionic leakage (%)	مالون دی آلدهید Malondialdehyde (nmol/g FW)	فنل کل Total phenol (mg.g^{-1} FW)	پرولین Proline (µmol.g^{-1} FW)
شاهد Control	73.13d	35.33a	1.54a	7.81bc	5.53c
۵۰ میکرومولار 50 µM	91.56c	17.06b	1.39b	8.56b	15.94ab
۱۰۰ میکرومولار 100 µM	94.49b	19.83b	1.31b	7.06c	19.03a
۲۰۰ میکرومولار 200 µM	96.40a	16.62b	1.38b	10.22a	13.99b

میانگین‌های با حروف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

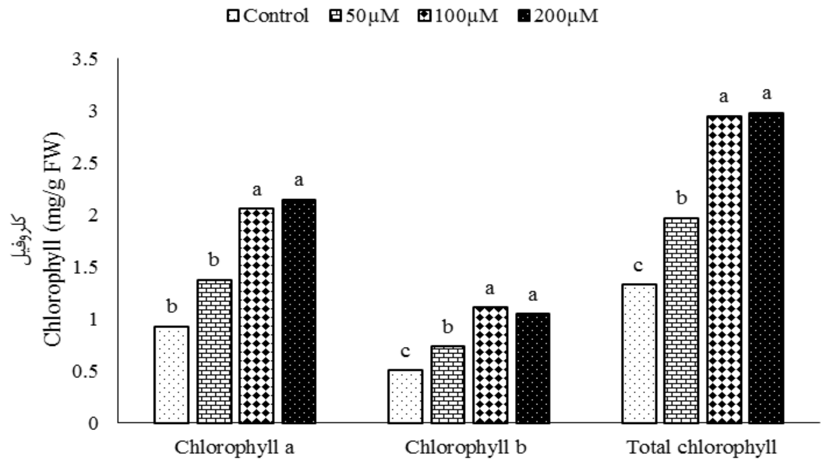
Values followed by different letters had significant difference according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$

کلروفیل

نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید در سطح یک درصد بر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد سینامیک اسید، به غیر از غلظت ۵۰ میکرومولار در مورد کلروفیل a، سبب افزایش کلروفیل a، b و کل نسبت به شاهد شد. غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تأثیر مشابهی بر میزان کلروفیل داشته و به طور متوسط ۱۰۸ تا ۱۲۵ درصد میانگین کلروفیل را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۳). پیش تیمار سینامیک اسید کاهش رشد ناشی از سرما در نشاءهای خیار را تعدیل کرد که احتمالاً به دلیل حفظ کلروفیل و در نتیجه حفظ ظرفیت فتوسنتزی در شرایط تنش سرما باشد. به طور مشابه با این نتایج، ونگ و همکاران (Wang *et al*., 2007) گزارش دادند که نشاءهای خیار تیمار شده با سینامیک اسید محتوای کلروفیل بالاتری داشته و شرایط تنش شوری را بهتر تحمل می‌کنند. در این رابطه گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با افزایش تحرک بخشی نیترات درونی بافت‌ها و افزایش بیوسنتز کلروفیل سبب بهبود فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه می‌شود (Kumar and Kumar, 2014). همچنین گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش را کنترل کرده و مانع از تخریب کلروفیل در این شرایط می‌شود (Lin *et al*., 2020).

شاخص سرمازدگی

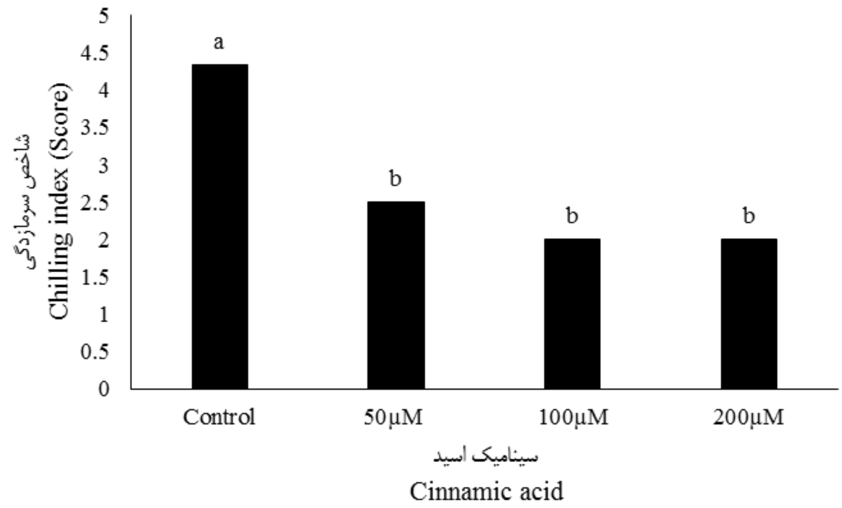
نتایج نشان داد که اثر تیمار سینامیک اسید بر صفت شاخص سرمازدگی در سطح یک درصد آماری معنی‌دار شد (جدول ۲). هر سه غلظت بکار رفته سینامیک اسید (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) سبب کاهش معنی‌دار شاخص سرمازدگی نسبت به شاهد شد. بین غلظت‌های بکار رفته اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد و هر سه غلظت به طور یکسان نشانه‌های ظاهری سرما بر نشاء را کاهش دادند (شکل ۴). تنش سرما باعث کاهش رشد و نمو در گیاهان حساس به سرما می‌شود. مطالعات مختلف اثرات منفی تنش سرما بر رشد خیار را نشان داده‌اند (Liu *et al*., 2009; Xu *et al*., 2008).



شکل ۳- اثر سینامیک اسید بر محتوای کلروفیل برگ نشاء خیار رقم 'سوپر دامینوس' تحت تنش سرما

Figure 3- The effect of different concentrations of cinnamic acid on leaf chlorophyll content of cucumber cv. Super Dominus seedlings subjected to chilling stress (Duncan, *p≤0.05*)

همچنین، سرما ممکن است باعث ایجاد نقاط نکروزه و کلروز در برگ‌ها و شاخساره، تأخیر در رشد برگ‌ها، طولانی شدن چرخه سلولی، ایجاد پژمردگی و افزایش حساسیت به عوامل بیماری‌زا شود (Hussain *et al.*, 2018). این تغییرات مورفولوژیکی می‌تواند به عنوان شاخص ظاهری آسیب سرما قلمداد شود. کاربرد خارجی سینامیک اسید در گیاهان ذرت، خیار و فلفل باعث بهبود رشد در این گیاهان شده و آثار تنش بر گیاه را کاهش داد، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Lin *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2011). در این رابطه گزارش شده است که کاربرد سینامیک اسید به واسطه نقشی که بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارد، با کاهش تجمع رادیکال-های آزاد منجر به کاهش تجمع مالون دی آلدهید و کاهش آسیب به برگ‌های خیار در شرایط تنش سرمایی می‌شود (Li *et al.*, 2011). همچنین، گزارش شده است که تیمار سینامیک اسید با ایجاد شوک اکسیداتیو در گیاهان، منجر به پاسخ‌های دفاعی گیاهان به شرایط تنش شده و از این طریق گیاهان می‌توانند شرایط تنش را بهتر تحمل کنند (Singh *et al.*, 2013).



شکل ٤- اثر غلظت‌های مختلف سینامیک اسید بر شاخص سرمازدگی نشاء خیار رقم 'سوپر دامینوس' تحت تنش سرما

Figure 4- The effect of different concentrations of cinnamic acid on chilling index of cucumber cv. Super Dominus seedlings subjected to chilling stress (Duncan, *p≤0.05*)

از جمله این پاسخ‌های دفاعی می‌توان افزایش محلول‌های سازگار و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی را نام برد (Sun Wang *et al*., 2007; *et al*., 2012). طبق نتایج نیز استفاده از تیمار سینامیک اسید سبب افزایش پرولین، کلروفیل و فنل کل شده و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را کاهش داد و این تغییرات منجر به کاهش آثار ظاهری سرما بر نشاء خیار نیز شد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد سینامیک اسید سبب کاهش آثار تنش سرما بر نشاء خیار شد. بدین صورت که با افزایش پرولین، کلروفیل، فنل و محتوای رطوبت نسبی منجر به کاهش میزان نشت یونی و تجمع مالون دی آلدهید در نشاءهای خیار تحت تنش سرما شد. در بیشتر صفات مورد ارزیابی در این مقاله (وزن تر و خشک شاخساره و ریشه، محتوای رطوبت نسبی و فنل کل)، غلظت ۲۰۰ میکرومولار سینامیک اسید تأثیر بهتری بر تحمل سرمایی گیاه نسبت به غلظت‌های دیگر در برابر شاهد داشت،که می‌توان برای استفاده در شرایط تنش سرمایی استفاده از تیمار اسید سینامیک را توصیه کرد. با این وجود تحقیقات بیشتری نیاز است تا پتانسیل کاربردی استفاده از سینامیک اسید برای کاهش آثار سرما بر گیاهان در شرایط مزرعه شناخته شود.

منابع

1- Aroca, R., Vernieri, P., Irigoyen, J.J., Sancher-Diaz, M., Tognoni, F., & Pardossi, A. (2003). Involvement of abscisic acid in leaf and root of maize (*Zea mays* L.) in avoiding chilling-induced water stress. *Plant Sciences* 165: 671–679. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00257-7

2- Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil 39*(1): 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060.

3- FAO. (2021). FAOSTAT, agricultural database. http://apps.FAO.Org.

4- Gao, Y., Liu, W., Wang, X., Yang, L., Han, S., Chen, S., & Qiang, S. (2018). Comparative phytotoxicity of usnic acid, salicylic acid, cinnamic acid and benzoic acid on photosynthetic apparatus of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology and Biochemistry* 128: 1-12. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.037.

5- Hussain, H.A., Hussain, S., Khaliq, A., Ashraf, U., Anjum, S.A., Men, S., & Wang, L. (2018). Chilling and drought stresses in crop plants: implications, cross talk, and potential management opportunities. *Frontiers in Plant Science* 9: 393. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00393.

6- Karadağ, B., & Yücel, N. C. (2017). Cinnamic acid and fish flour affect wheat phenolic acids and flavonoid compounds, lipid peroxidation, proline levels under salt stress. *Acta Biologica Hungarica 68*(4): 388-397. https://doi.org/10.1556/018.68.2017.4.5.

7- Korkmaz, A., Korkmaz, Y., & Demirkiran, A.R. (2010). Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid. *Environmental and Experimental Botany* 67: 495–501. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.07.009.

8- Kumar, S.P., & Kumar, C.V. (2014). Impact of cinnamic acid on physiological and anatomical changes in maize plants (*Zea mays* L.) grown under salinity stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry 10*(2): 1-13.

9- Lee, S.H., Singh, A.P., Chung, G.C., Kim, Y.S., & Kong, I.B. (2002). Chilling root temperature causes rapid ultrastructural changes in cortical cells of cucumber (*Cucumis sativus* L.) root tips. *Journal of Experimental Botany 53*(378): 2225-2237. https://doi.org/10.1093/jxb/erf071.

10- Li, Q., Yu, B., Gao, Y., Dai, A.H., & Bai, J.G. (2011). Cinnamic acid pretreatment mitigates chilling stress of cucumber leaves through altering antioxidant enzyme activity. *Journal of Plant Physiology 168*(9): 927-934. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.11.025.

11- Liang, S.M., Kuang, J.F., Ji, S.J., Chen, Q.F., Deng, W., Min, T., & Lu, W.J. (2020). The membrane lipid metabolism in horticultural products suffering chilling injury. *Food Quality and Safety 4*(1): 9-14. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyaa001.

12- Lin, C.Y., Chung, H.H., Kuo, C.T., & Yiu, J.C. (2020). Exogenous cinnamic acid alleviates salinity-induced stress in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings. N*ew Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 48*(3): 164-182. https://doi.org/10.1080/01140671.2020.1765814.

13- Liu, J.J., Lin, S.H., Xu, P.L., Wang, X.J., & Bai, J.G. (2009). Effects of exogenous silicon on the activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in chilling-stressed cucumber leaves. *Agricultural Sciences in China 8*(9): 1075-1086. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60315-6.

14- Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany 46*(12): 1843-1852. https://doi.org/10.1093/jxb/46.12.1843.

15- Milic, B.L., Dijilas, S.M., & Canadanovic-Brunet, J.M. (1998). Antioxidative activity of phenolic compounds on metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chemistry* 61: 443–447. https://doi.org/10.1016/S0308-

8146(97)00126-X.

16- Mohagheghian, E., & Ehsan Pour, A. (2021). Effect of Cinnamic acid on the activity of phenylalanine ammonialyase (PAL) and tyrosine ammonialyase (TAL) enzymes and some physiological characteristics of tobacco plant (*Nicotiana rustica* L.) under salinity stress in vitro calture. *Journal of Cell & Tissue 12*(2): 88-102. https://doi.org/10.52547/JCT.12.2.88.

17- Parkash, V., & Singh, S. (2020). A review on potential plant-based water stress indicators for vegetable crops. *Sustainability 12*(10): 3945. https://doi.org/10.3390/su12103945.

18- Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules 24*(13): 1-22. https://doi.org/10.3390/molecules24132452.

19- Singh, P.K., Chaturvedi, V.K., & Singh H.B. (2011). Cross talk signaling: an emerging defense strategy in plants. *Current Science 100*(3): 288-289.

20- Singh, P.K., Singh, R., & Singh, S. (2013). Cinnamic acid induced changes in reactive oxygen species scavenging enzymes and protein profile in maize (*Zea mays* L.) plants grown under salt stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants 19*(1): 53-59. https://doi.org/10.1007/s12298-012-0126-6.

21- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture 16*(3): 144-158.

22- Stewart, R.R., & Bewley, J.D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology 65*(2): 245-248. https://doi.org/10.1104/pp.65.2.245.

23- Strain, H.H., & Svec, W.A. (1966). Extraction, separation, estimation and isolation of the chlorophylls. *The Chlorophylls* 1: 22-66. https://doi.org/10.1016/B978-1-4832-3289-8.50008-4.

24- Sun, W.J., Nie, Y.X., Gao, Y., Dai, A.H., & Bai, J.G. (2012). Exogenous cinnamic acid regulates antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in drought-stressed cucumber leaves. *Acta Physiologiae Plantarum 34*(2): 641-655. https://doi.org/10.1007/s11738-011-0865-y.

25- Trovato, M., Forlani, G., Signorelli, S., & Funck, D. (2019). Proline metabolism and its functions in development and stress tolerance. In Osmoprotectant-mediated abiotic stress tolerance in plants. *Springer*, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8-2.

26- Verstraeten, S.V., Keen, C.L., Schmitz, H.H., Fraga, C.G., & Oteiza, P.L. (2003). Flavan-3-ols and procyanidins protect liposomes against lipid oxidation and disruption of the bilayer structure. *Free Radical Biology and Medicine* 34: 84–92. https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01185-1.

27- Wang, C.Y. (1985). Modification of chilling susceptibility in seedlings of cucumber and zucchini squash by the bio regulator paclobutrazol (PP333). *Scientia Horticulturae 26*(4): 293-298. https://doi.org/10.1016/0304-4238(85)90013-5.

28- Wang, X., Wang, H., Wu, F., & Liu, B. (2007). Effects of cinnamic acid on the physiological characteristics of cucumber seedlings under salt stress. *Frontiers of Agriculture in China 1*(1): 58-61. https://doi.org/10.1007/s11703-007-0010-2.

29- Xu, P.L., Guo, Y.K., Bai, J.G., Shang, L., & Wang, X.J. (2008). Effects of long‐term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. *Physiologia Plantarum 132*(4): 467-478. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.01036.x.

30- Ye, S.F., Zhou, Y.H., Sun, Y., Zou, L.Y., & Yu, J.Q. (2006). Cinnamic acid causes oxidative stress in cucumber roots, and promotes incidence of *Fusarium* wilt. *Environmental and Experimental Botany 56*(3): 255-262. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.02.010.

31- Yu, J.Q., & Matsui, Y. (1997). Effects of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedlings. *Journal of Chemical Ecology 23*(3): 817-827. https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006413.98507.55.

32- Zhou, M.Q., Shen, C., Wu, L.H., Tang, K.X., & Lin, J. (2011). CBF-dependent signaling pathway: a key responder to low temperature stress in plants. *Critical Reviews in Biotechnology 31*(2): 186-192. https://doi.org/10.3109/07388551.2010.505910.